

biomarker for NASH both in an animal model and patients [26]. Recently, we found that R<sup>58</sup> LAP-DP positivity well matched emergence of CLS (Konuma et al., unpublished data).

These data suggest the occurrence of a PLK-dependent TGF- $\beta$  activation reaction in patients and indicate that the LAP-DP may be useful as a surrogate marker reflecting PLK-dependent TGF- $\beta$ 1/3 activation and subsequent fibrogenesis in fibrotic liver both in animal models and in patients.

### **Conclusion and future subjects**

The most fibrogenic cytokine, TGF- $\beta$ , is produced as a latent complex, in which TGF- $\beta$  is trapped by its propeptide, LAP. On the surface of activated HSCs, PLK activates TGF- $\beta$  by cleaving LAP between R<sup>58</sup> and L<sup>59</sup> residues, releasing active TGF- $\beta$  from the complex. We made specific antibodies that recognize neo C-terminal (R<sup>58</sup>) and N-terminal (L<sup>59</sup>) ends of LAP-DP and found that LAP-DP may serve as a novel surrogate marker of TGF- $\beta$  activation, namely generation of active TGF- $\beta$ , thereby a therapeutic marker for TGF- $\beta$ -mediated liver fibrogenesis in patients [25].

Utilizing the LAP-DP antibodies, we are developing techniques to visualize fibrogenic area by positron emission tomography (PET), planning to eliminate activated HSCs with *Pertussis* toxin, and challenging to solve the co-crystal structure of LAP and a LAP-DP targeting inhibitor, which binds to the LAP cleavage site, thereby inhibiting the TGF- $\beta$  activation and liver fibrosis in the HBV-infected chimeric mice (Hara et al., unpublished data). The effectiveness of an inhibitor against TGF- $\beta$  activation reaction

has been reported in the integrin-mediated activation of TGF- $\beta$  (3, 15, 27). LAP-DP is also used to monitor effects of anti-fibrogenic factors or compounds for discovery of a novel anti-fibrosis drug. For example, we recently found that HCV NS3 protease mimics TGF- $\beta$ 2 and enhances liver fibrosis via binding to and activating TGF- $\beta$  type I receptor, and that an anti-NS3 antibody raised against the predicted binding sites attenuates liver fibrosis in HCV-infected chimeric mice [28]. In this study, R58 LAP-DP staining nicely showed the anti-fibrogenic potentials of the anti-NS3 antibody [28].

The technique developed accelerates the drug discovery targeting TGF- $\beta$ -dependent fibrogenesis in patients suffering from chronic hepatitis.

### **Acknowledgment**

This work was supported partly by the Program for Promotion of Fundamental Studies in Health Science of National Institute of Biomedical Innovation (NIBL) and a grant from the Uehara Memorial Foundation, Japan (to S.K.), the Research on the Innovative Development and the Practical Application of New Drugs for Hepatitis B (Principal investigator: Soichi Kojima; H24-B Drug Discovery-Hepatitis-General-003) provided by the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan.

## References

1. Bataller R, Brenner DA (2005) Liver fibrosis. *J Clin Invest* 115:209–218
2. Friedman SL (2008) Mechanism of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 134:1655-1669
3. Schuppan D, Kim YO (2013) Evolving therapies for liver fibrosis. *J Clin Invest* 123:1887-1901
4. Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Ito K, Matsuda A, Sekiya S, Hige S, Sakamoto M, Kage M, Mizokami M, Narimatsu H (2013) A serum "sweet-doughnut" protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. *Sci Rep* 3:1065
5. Ikeda K, Izumi N, Tanaka E, Yotsuyanagi H, Takahashi Y, Fukushima J, Kondo F, Fukusato T, Koike K, Hayashi N, Kumada H (2013) Fibrosis score consisting of four serum markers successfully predicts pathological fibrotic stages of chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 43:596-604
6. Fallatah HI (2014) Noninvasive biomarkers of liver fibrosis: An overview. *Adv Hepatol* Article ID 357287
7. Kazankov K, Barrera F, Møller HJ, Bibby BM, Vilstrup H, George J, Grønbaek H (2014) Soluble CD163, a macrophage activation marker, is independently associated with fibrosis in patients with chronic viral hepatitis B and C. *Hepatology* 60:521-30
8. Dooley S, ten Dijke P (2012) TGF- $\beta$  in progression of liver disease. *Cell Tissue Res* 347:245-256

9. Dabovic B, Rifkin DB (2008) TGF- $\beta$  bioavailability: Latency, targeting, and activation. In: Derynck R and Miyazono K eds The TGF- $\beta$  family. New York; Cold Spring Harbor Laboratory Press 179-202
10. Breitkof K, Lahme B, Tag CG, Gressner AM (2001) Expression and matrix deposition of latent TGF- $\beta$  binding proteins in normal and fibrotic rat liver and transdifferentiating hepatic stellate cells in culture. *Hepatology* 33:387-396
11. Zilberberg L, Todorovic V, Dabovic B, Horiguchi M, Couroussé T, Sakai LY, Rifkin DB (2012) Specificity of latent TGF- $\beta$  binding protein (LTBP) incorporation into matrix: role of fibrillins and fibronectin. *J Cell Physiol* 227:3828-3836
12. Margadant C, Sonnenberg A (2010) Integrin-TGF- $\beta$  crosstalk in fibrosis, cancer and wound healing. *EMBO reports* 11:97-105
13. Shi M, Zhu J, Wang R, Chen X, Mi L, Walz T, Springer TA (2011) Latent TGF- $\beta$  structure and activation. *Nature* 474:343-349
14. Henderson NC, Sheppard D (2012) Integrin-mediated regulation of TGF $\beta$  in fibrosis. *Biochim Biophys Acta* 1832:891-896
15. Patsenker E, Popov Y, Stickel F, Jonczyk A, Goodman SL, Schuppan D (2008) Inhibition of integrin  $\alpha\beta_6$  on cholangiocytes blocks transforming growth factor- $\beta$  activation and retards biliary fibrosis progression. *Gastroenterology* 135:660-670
16. Ribeiro SM, Poczatek M, Schultz-Cherry S, Villain M, Murphy-Ullrich JE (1999) The activation sequence of thrombospondin-1 interacts with the latency-associated peptide to regulate activation of latent transforming growth factor- $\beta$ . *J Biol Chem* 274:13586-13593

17. Jenkins G (2008) The role of proteases in transforming growth factor- $\beta$  activation. *Int J Biochem Cell Biol* 40:1068-1078
18. Du X, Shimizu A, Masuda Y, Kuwahara N, Arai T, Kataoka M, Uchiyama M, Kaneko T, Akimoto T, Iino Y, Fukuda Y (2012) Involvement of matrix metalloprotease-2 in the development of renal interstitial fibrosis in mouse obstruction nephropathy. *Lab Invest* 92:1149-1160
19. Lyons RM, Gentry LE, Purchio AF, Moses HL (1990) Mechanism of activation of latent recombinant transforming growth factor beta 1 by plasmin. *J Cell Biol* 110:1361-1367
20. Okuno M, Akita K, Moriwaki H, Kawada N, Ikeda K, Kaneda K, Suzuki Y, Kojima S (2001) Prevention of rat fibrosis by protease inhibitor, Camostat Mesilate, via reduced generation of active TGF- $\beta$ . *Gastroenterology* 120:1784-1800
21. Akita K, Okuno M, Enya M, Imai S, Moriwaki H, Kawada N, Suzuki Y, Kojima S (2002) Impaired liver regeneration in mice by lipopolysaccharide via TNF- $\alpha$ /kallikrein-mediated activation of latent TGF- $\beta$ . *Gastroenterology* 123:352-364
22. Bissell DM, Wang SS, Jarnagin WR, Roll FJ (1995) Cell-specific expression of transforming growth factor- $\beta$  in rat liver. Evidence for autocrine regulation of hepatocyte proliferation. *J Clin Invest* 96:447-455
23. Friedman SL (1993) The cellular basis of hepatic fibrosis. *N Engl J Med* 328:1828-1835
24. Lyons RM, Keski-Oja J, Moses HL (1988) Proteolytic activation of latent transforming growth factor- $\beta$  from fibroblast-conditioned medium. *J Cell Biol*

106:1659-1665

25. Hara M, Kirita A, Kondo W, Matsuura T, Nagatsuma K, Dohmae N, Ogawa S, Imajoh-Ohmi S, Friedman SL, Rifkin DB, Kojima S (2014) LAP degradation product reflects plasma kallikrein-dependent TGF- $\beta$  activation in patients with hepatic fibrosis. Springerplus 3:221
26. Itoh M, Kato H, Suganami T, Konuma K, Marumoto Y, Terai S, Sakugawa H, Kanai S, Hamaguchi M, Fukaishi T, Aoe S, Akiyoshi K, Komohara Y, Takeya M, Sakaida I, Ogawa Y (2013) Hepatic crown-like structure: a unique histological feature in non-alcoholic steatohepatitis in mice and humans. PloS One 8: e82163
27. Allison M (2012) Stromedix acquisition signals growing interest in fibrosis. Nat Biotechnol 30:375-376
28. Sakata K, Hara M, Terada T, Watanabe N, Takaya D, Yaguchi S, Matsumoto T, Matsuura T, Shirouzu M, Yokoyama S, Yamaguchi T, Miyazawa K, Aizaki H, Suzuki T, Wakita T, Imoto M, Kojima S (2013) HCV NS3 protease enhances liver fibrosis via binding to and activating TGF- $\beta$  type I receptor. Sci Rep 3:3243

## Figure Legends

### Fig. 1 TGF- $\beta$ activation and signaling pathway

TGF- $\beta$  is produced as a latent complex (LLC) composed of active TGF- $\beta$  trapped by its propeptide LAP (SLC) and a matrix protein LTBP. Upon cleavage of LAP by proteases such as PLK, active TGF- $\beta$  is released from the complex (This reaction is called as TGF- $\beta$  activation) and exerts the fibrogenic activity (stimulation of collagen synthesis) via binding to its receptors and Smad signaling.

### Fig. 2 Cleavage of K<sup>56</sup>LRL<sup>59</sup> within LAP activates TGF- $\beta$

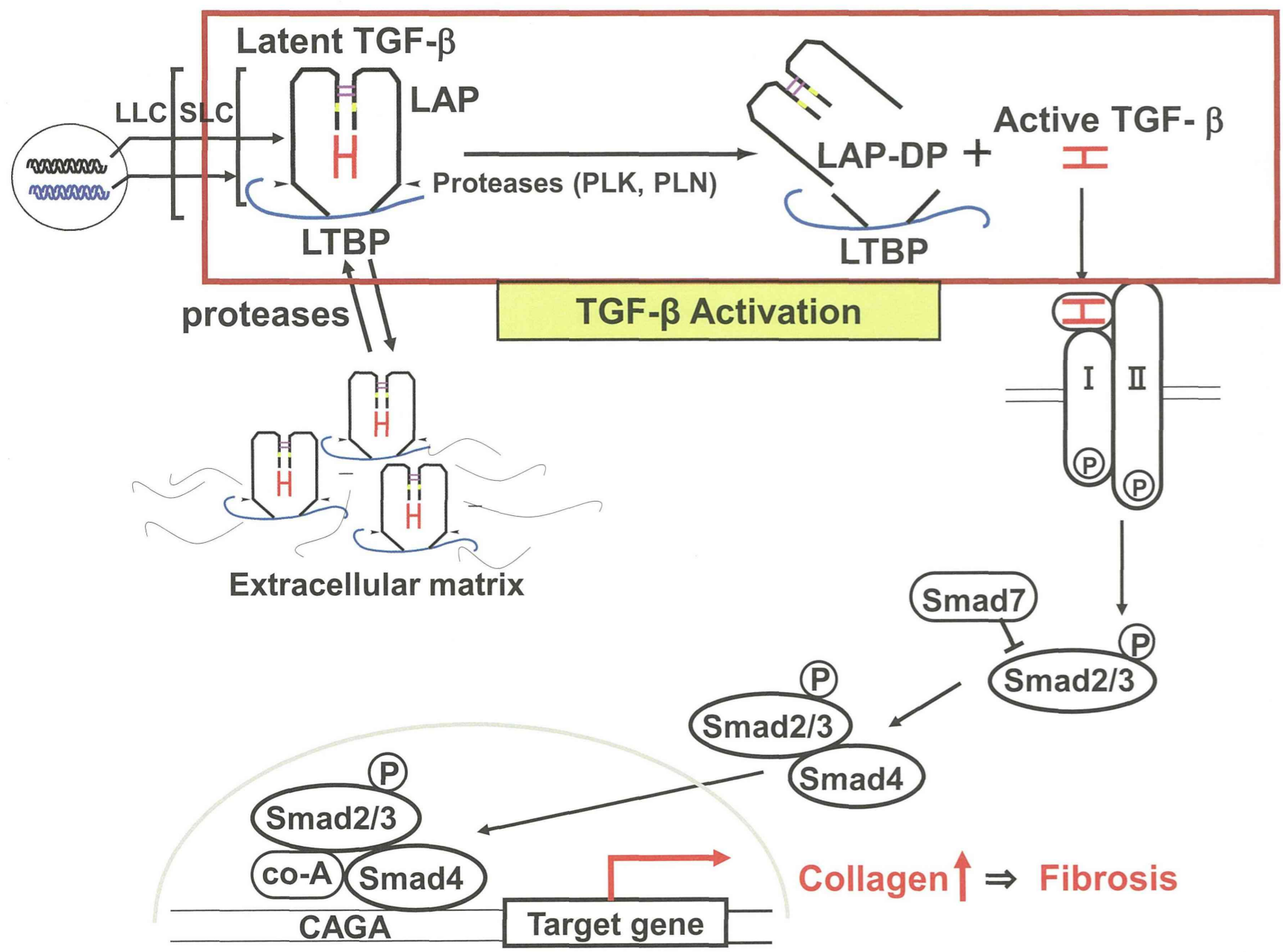
PLN and PLK cleave LAP between K<sup>56</sup>-L<sup>59</sup> and R<sup>58</sup>-L<sup>59</sup> residues, respectively, causing to release active TGF- $\beta$ 1 from the latent complex. The amino acid sequences around the PLN and PLK cleavage sites are illustrated. Antibodies, which specifically recognize cutting edges of LAP-DPs, were produced. Dark blue “Y” labeled R58 represents antibodies recognizing the C-terminal of N-terminal side LAP-DPs, whereas red “Y” labeled L59 represents antibodies recognizing the N-terminal of C-terminal side LAP-DPs. A comparison of amino acid sequences from N-terminus until the PLK cleavage site among three isoforms of TGF- $\beta$  is presented in the bottom.

### Fig. 3 Emergence of TGF- $\beta$ LAP-DP in activated HSCs within pre-fibrotic areas in BDL models

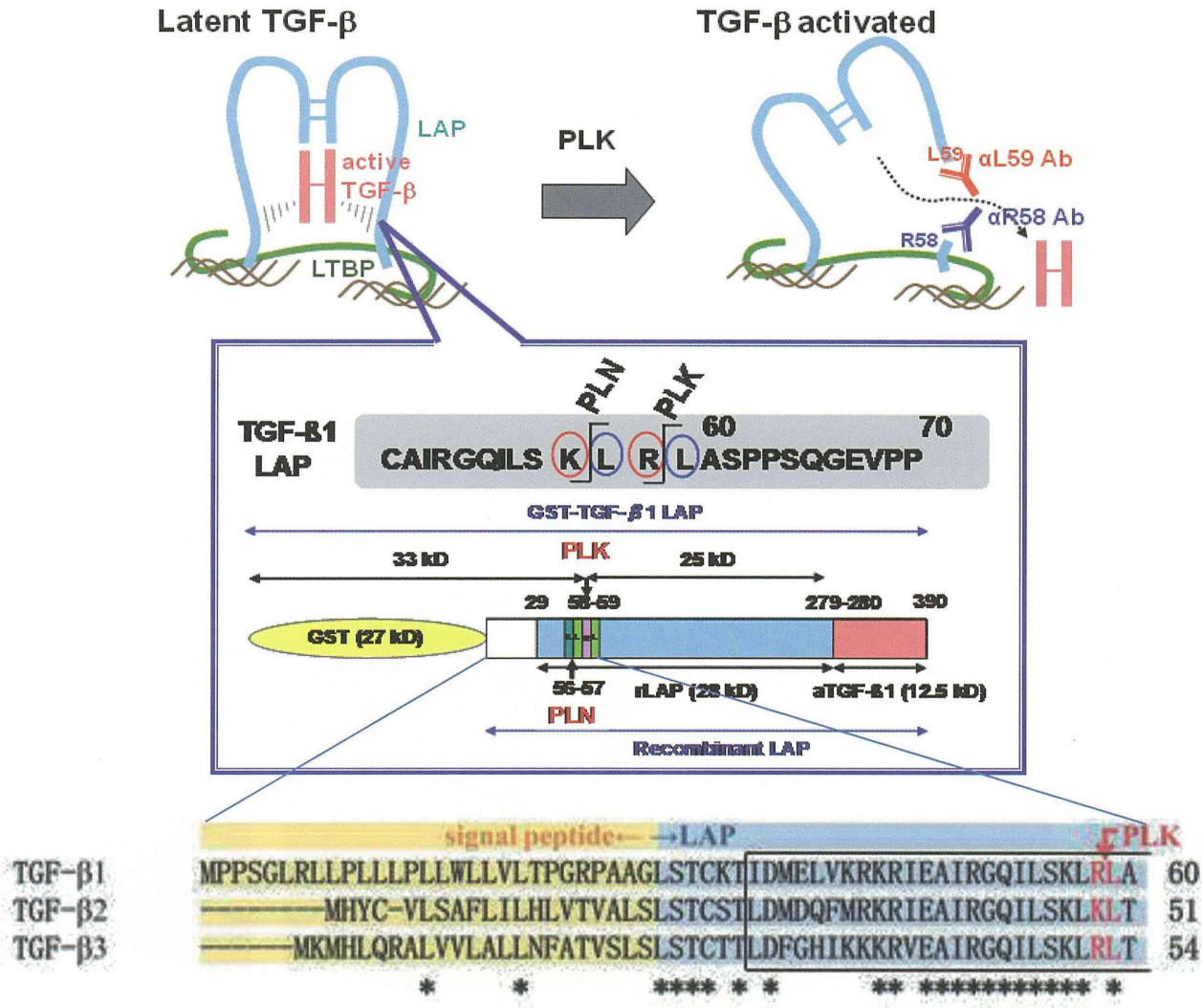
Liver sections from BDL-operated mice were stained by HE (*a*) and Sirius red (*b*), and immunostained with R58 (*c*) and L59 (*d*) antibodies (Scale bar = 50  $\mu$ m), and were

immunostained with R58 (*e*), anti- $\alpha$ SMA (*f*), anti-CD31 (*g*), and anti-CD68 (*h*) antibodies. Scale bar = 25  $\mu$ m. More detailed results are provided elsewhere [25].

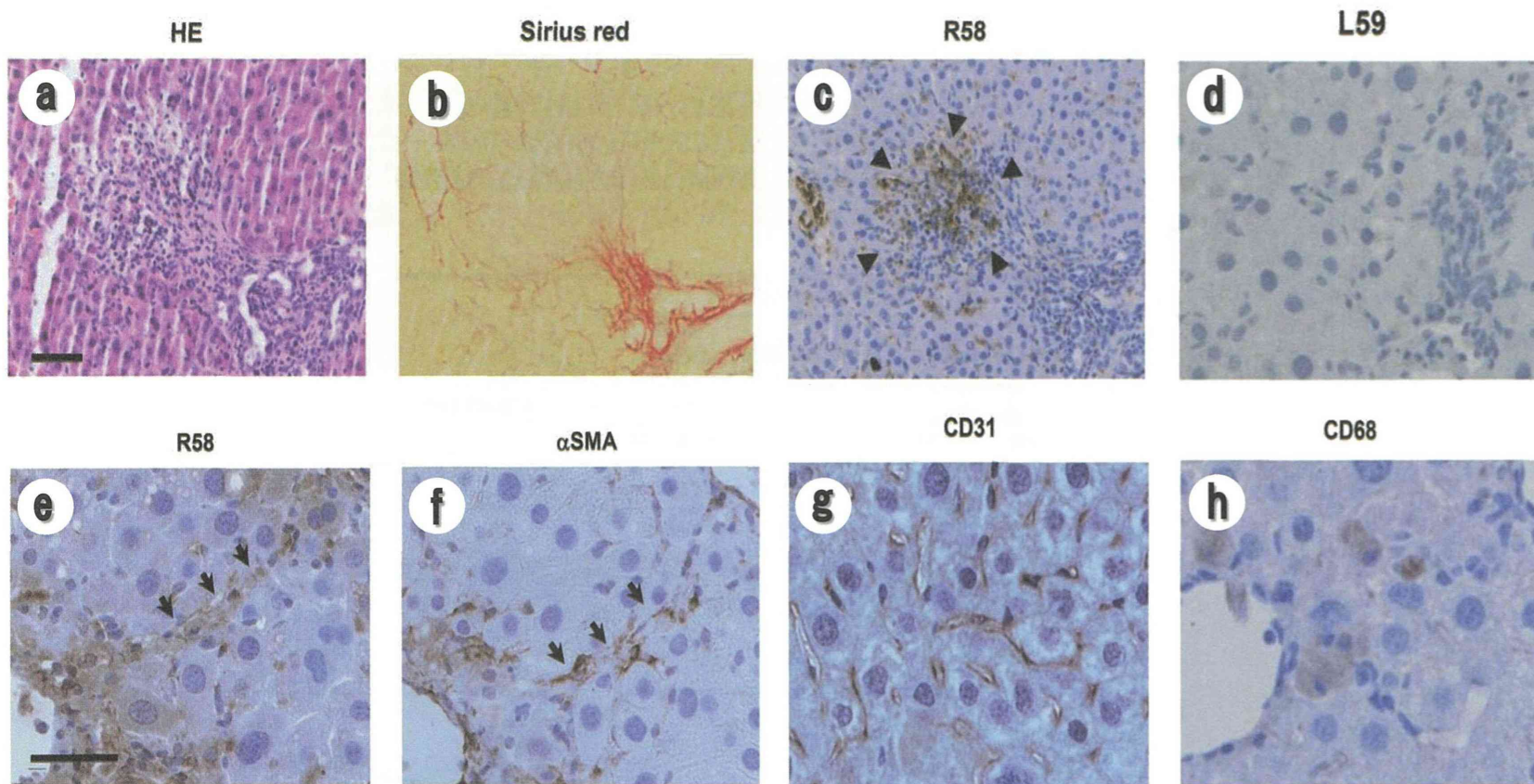




Hara et al. Fig. 1



Hara et al. Fig. 2



Hara et al. Fig. 3

ISBN978-4-8306-1893-2  
C3047 ¥10000E



9784830618932



1923047100009

HEPATOLOGY  
PRACTICE

[第4巻]

難治性肝疾患  
の診療を極める

編

大平弘正 / 坂井田功  
竹原徹郎 / 持田智

HEPATOLOGY  
PRACTICE VOL. 4

# 難治性肝疾患

## の診療を極める

基本から最前線まで

ゲスト編集

大平弘正 福島県立医科大学教授

坂井田功 山口大学教授

常任編集

竹原徹郎 大阪大学教授

持田 智 埼玉医科大学教授

- ◆自己免疫性肝炎(AIH)
- ◆原発性胆汁性肝硬変(PBC)
- ◆原発性硬化性胆管炎(PSC)
- ◆薬物性肝障害
- ◆急性肝不全
- ◆肝内結石症
- ◆門脈血行異常症
- ◆金属代謝異常による肝疾患

定価 (本体 10,000円+税)

文光堂

文光堂

## 執筆者一覧

## ●ゲスト編集

大平弘正 福島県立医科大学医学部消化器・リウマチ膠原病内科学教授  
坂井田 功 山口大学大学院医学系研究科消化器病態内科学教授

## ●常任編集

竹原徹郎 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学教授  
持田 智 埼玉医科大学消化器内科・肝臓内科教授

## ●執筆(執筆順)

竹原徹郎 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学教授  
宮城琢也 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学  
中本安成 福井大学医学部内科学(2)教授  
根本朋幸 福井大学医学部内科学(2)  
山際 訓 新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器内科学  
高橋宏樹 東京慈恵会医科大学消化器・肝臓内科講師  
下田慎治 九州大学大学院医学研究院病態修復内科学講師  
上野義之 山形大学医学部消化器内科学教授  
勝見智大 山形大学医学部消化器内科学  
阿部雅則 愛媛大学大学院医学系研究科消化器・内分泌・代謝内科准教授  
廣原淳子 関西医科大学香里病院内科病院教授  
仲野俊成 関西医科大学大学情報センター准教授  
滝川 一 帝京大学医学部内科学主任教授  
田中 篤 帝京大学医学部内科学教授  
清家正隆 大分大学医学部肝疾患相談センター診療教授  
中沼安二 静岡県立静岡がんセンター病理診断科  
原田憲一 金沢大学医薬保健研究域医学系形態機能病理学教授  
大平弘正 福島県立医科大学医学部消化器・リウマチ膠原病内科学教授  
橋本悦子 東京女子医科大学消化器内科教授  
谷合麻紀子 東京女子医科大学消化器内科講師  
小木曾智美 東京女子医科大学消化器内科

銭谷幹男 東京慈恵医科大学消化器・肝臓内科教授  
佐伯千里 東京慈恵医科大学消化器・肝臓内科  
藤澤知雄 済生会横浜市東部病院小児肝臓消化器科顧問  
梅村武司 信州大学医学部内科学第二教室准教授  
高橋敦史 福島県立医科大学医学部消化器・リウマチ膠原病内科学  
岡崎和一 関西医科大学内科学第三講座主任教授  
山本和秀 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科消化器・肝臓内科学教授  
三宅康広 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科消化器・肝臓内科学  
岩崎信二 高知大学医学部消化器内科学准教授  
高橋昌也 高知大学医学部消化器内科学講師  
向坂彰太郎 福岡大学医学部消化器内科学教授  
竹山康章 福岡大学医学部消化器内科学講師  
市田隆文 湘南東部総合病院病院長  
平野克治 湘南東部総合病院肝臓病センターセンター長  
乾 あやの 済生会横浜市東部病院小児肝臓消化器科部長  
角田知之 済生会横浜市東部病院小児肝臓消化器科  
鈴木義之 虎の門病院肝臓内科医長  
鈴木義之 久留米大学名誉教授  
佐田通夫 久留米大学医学部内科学講座消化器内科部門  
有永照子 国立病院機構信州上田医療センター地域医療教育センター長  
吉澤 要 枚方公済病院消化器内科部長  
渡部則彦 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科肝臓病学講座教授  
中村 稔 慶應義塾大学医学部消化器内科教授  
金井隆典 慶應義塾大学大学院薬学研究所薬物治療学教授  
齋藤英胤 慶應義塾大学医学部消化器内科講師  
海老沼浩利 慶應義塾大学医学部消化器内科講師  
恩地森一 愛媛大学名誉教授/済生会今治医療福祉センター長  
堀池典生 済生会今治第二病院病院長  
川口 巧 久留米大学医学部内科学講座消化器内科部門・消化器疾患情報講座講師  
坂井田 功 山口大学大学院医学系研究科消化器病態内科学教授  
瀬川 誠 山口大学医学部附属病院医療人育成センター准教授  
佐藤保則 金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理学講師  
松崎靖司 東京医科大学茨城医療センターセンター長

## II 診断編

## 1 自己免疫性肝疾患の病理診断

## 要点

- 自己免疫性肝疾患にみられる病理所見は、疾患特異的および非特異的な所見からなる。
- AIHの病理像は慢性活動性肝炎でウイルス性慢性肝炎の像に類似し、急性型では薬物性肝障害の像に類似する。
- PBCの新しい病期分類および活動度分類が推奨されている。
- PSCはIgG4-SCとの鑑別が重要である。

## はじめに

病因または病態形成に自己免疫や免疫異常の関与が想定されている肝疾患として自己免疫性肝炎 (autoimmune hepatitis: AIH)、原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis: PBC)、原発性硬化性胆管炎 (primary sclerosing cholangitis: PSC) がある。これら疾患の臨床病理学的鑑別は治療方法の選択に重要であり、さらに非定型例や悪性腫瘍の除外のためにも肝生検が必要不可欠な場合がある。いずれの疾患も慢性炎症性疾患であるがゆえに、壊死炎症性変化や線維化などの多彩な病変が肝胆道組織内で不均一に出現し、またサンプリングエラーの可能性も含め、生検にて確定診断に至らない例もある。しかし、門脈域と胆管および肝実質内でみられる所見の組み合わせで、かなりの症例は病理組織学的に診断可能である。

本項では、各疾患ごとの病理学的所見および組織学的病期分類を中心に述べる。

## 1 自己免疫性肝炎 (AIH)

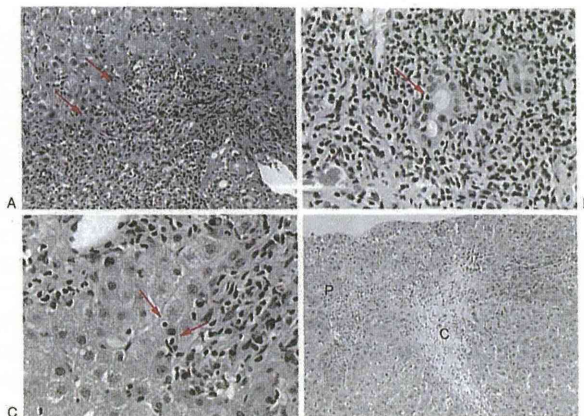
AIHは血清学的に抗核抗体 (antinuclear antibodies: ANA) や抗平滑筋抗体などの自己抗体の出現が重要であるが、その他の肝疾患および肝以外の自己免疫疾患に伴う肝障害を除外することが重要である。組織学的にウイルス性慢性肝炎との鑑別が困難な場合が多く、病理診断は所見の相対的な多寡による要素が強い。

## 1 組織像

AIHの基本的な病理像は、インターフェイス肝炎 (以前はブースミール壊死と呼ばれていた) を伴う慢性活動性肝炎であり、門脈域内でのリンパ球形質細胞浸潤および門脈域の線維性拡大と線維性隔壁の形成、肝境界板領域での肝細胞の障害壊死像、小葉内での多発性かつ種々の程度の壊死炎症像や類洞内リンパ球浸潤を認める。このような慢性活動性肝炎は、ウイルス性慢性肝炎でも出現する組織像であり、診断特異的な所見ではない。しかし、AIHではウイルス性慢性活動性肝炎に比べて、門脈域炎および実質炎が強い傾向にあり、病理診断時にはAIHを示唆する所見として拾い上げる必要がある。すなわち、門脈域では著明かつ集簇性のリンパ球形質細胞浸潤、高度のインターフェイス肝炎がみられ (図1A)、また肝炎性胆管障害 (hepatitis-associated bile duct injury, hepatic duct lesion) (図1B) と呼ばれる胆管像

図1 自己免疫性肝炎 (AIH)

A: 拡大した門脈域に慢性炎症細胞浸潤と高度のインターフェイス肝炎 (矢印) を認める。B: 肝炎性胆管障害、胆管構造の乱れを伴いつつ胆管上皮層内にリンパ球浸潤を認める (矢印)。C: emperipolesis。肝細胞内にリンパ球の侵入を認める (矢印)。D: 急性発症のAIH。小葉中心部 (C) に帯状の壊死があり、門脈域 (P) にも軽度の炎症細胞浸潤を認める。



もしくは認められる (なお、胆管病変のみの観察ではPBCの慢性胆管炎とAIHの肝炎性胆管障害像との鑑別が困難)。実質内では、肝細胞の腫大や好酸性変性、アポトーシス、色素貪食細胞が高率に出現するようになり、さらに肝細胞の多核、巨細胞化を認める症例もある。特に、急性増悪 (シューブ) 時には、肝実質の虚脱および多数の色素貪食細胞を伴いつつ帯状壊死や架橋形成性壊死などの癒合性肝壊死、さらには亜広汎性~広汎性の肝壊死を呈するようになる。また、肝細胞の傷害に加えて再生像もみられ、拡大した門脈域内や線維性隔壁内に取り残された肝細胞 (entrapped hepatocyte) に再生性的変化が加わると特徴的なロゼット形成が出現する。治療前の肝針生検でこれらの像を全て確認できる症例はまれであるが、活動性の高い肝炎はAIHの病理学的診断の必須所見であり、慢性肝炎で癒合性以上の高度の肝細胞壊死を認めた場合、AIHの可能性も疑うべきである。

簡易型国際AIHグループ診断基準 (2008年)<sup>1)</sup>の病理型目として、emperipolesisが重要な所見としてあげられている (図1C)。emperipolesisは肝細胞ロゼットともに肝炎性変化の強いAIHで観察され、インターフェイス肝炎の近傍の肝細

胞に出現する<sup>2)</sup>。通常のHE染色では、リンパ球が肝細胞の内または外に存在するのかが判断に苦しみ場合やリンパ球がアポトーシス細胞との区別が困難な場合も多く、さらにemperipolesisの有無でスコアに多く影響するため、病理医にとっては荷の重い所見である。しかし、経験的にemperipolesisがみられる症例では散在性に多発する傾向があり、容易に発見しうる症例もある。

臨床的に急性肝炎様の病態で発症するAIHがある。多くは慢性活動性肝炎から急性増悪をきたした症例であるが、明らかな慢性像を伴わずに急性かつ高度の肝細胞傷害がみられる急性発症型や劇症発症型AIHがある<sup>3)</sup>。診断には肝生検による病理検索が有用であり、薬物性肝障害と類似した壊死パターンである中心静脈周囲性のzonal necrosis (zone 3 necrosis, centrozonal necrosis) が特徴である<sup>4)</sup> (図1D)。また、慢性AIHの特徴である形質細胞浸潤および門脈域炎も他の成因の急性肝炎に比べて高度であるが、門脈域の変化の乏しい症例もある。

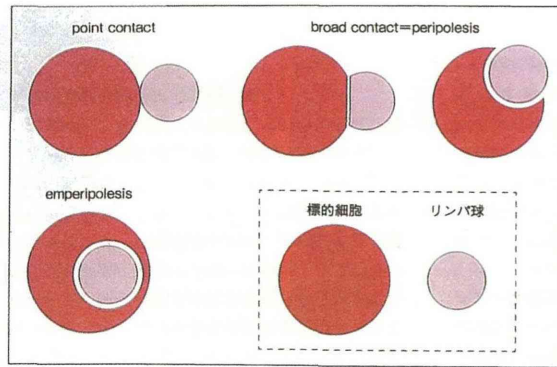


図2 免疫担当細胞と標的細胞の結合形式

### Memo emperipoliosis

免疫担当細胞(リンパ球)と標的細胞との免疫学的な接触形式として、point contact, broad contact (peripoliosis), emperipoliosis があり、emperipoliosis は最も密着度が高く、免疫学的にも高度な結合形式である(図2)。現在、AIHの診断基準の病理所見のひとつとして注目されているが、当初はB型慢性肝炎にみられる所見として報告されており、AIHのみならず慢性活動性肝炎を示す他の病態でも出現する。

## 2 組織学的病期分類

ウイルス性肝炎で用いられている慢性肝炎の組織学的病期および活動度分類(国際肝臓学会, 新大山分類)が用いられる。すなわち、壊死炎症の程度(活動度: grading, activity)をA0(minimal, 壊死炎症所見なし), A2(mild, 軽度の壊死炎症所見), A3(moderate, 中等度の壊死炎症所見), A4(severe, 高度の壊死炎症所見), また線維化の程度(病期: staging, fibrosis)をF0(no, 線維化なし), F1(mild, 門脈域の線維性拡大), F2(moderate, 架橋性線維化), F3(severe, 小葉の歪みを伴う線維化), F4(cirrhosis, 肝硬変)に分類する。

## II 原発性胆汁性肝硬変(PBC)

PBCは中高年の女性に好発する臓器特異的自己免疫疾患で、小葉間胆管レベルを中心とした肝内小型胆管の慢性胆管炎と胆管消失が基本病態であり、胆管消失に伴う慢性胆汁うっ滞から胆汁性肝線維症を呈する疾患である。血清学的に抗ミトコンドリア抗体(antimitochondrial antibodies: AMA)の出現が特徴で、対応抗原としてビルビン酸脱水素酵素などのミトコンドリア酵素群が同定され、近年、血清学的診断の感度および特異性が大きく向上したが、PBCの病期および活動性を評価するための肝生検の意義は大きい。

### 1 病理組織

PBCの病態の本質は、肝内小型胆管の消失であり、その前病変としてPBCの組織学的なhall-markである慢性非化膿性破壊性胆管炎(chronic non-suppurative destructive cholangitis: CNSDC)が病初期でよくみられる。慢性胆管炎は胆管周囲のリンパ球形質細胞浸潤を伴い、しばしば軽い胆管上皮の乱れや屈曲および胆管上皮層内へのリンパ球(intraepithelial lymphocytes)<sup>5)</sup>(図3A)を認めるが、典型的なCNSDCでは、胆管上皮および核の多層化、乳頭状増生などの増殖

### 図3 原発性胆汁性肝硬変(PBC)

A: 肉芽腫性胆管炎、慢性胆管炎の周囲に類上皮肉芽腫(G)の形成を認め、また障害胆管の上皮層内にはリンパ球浸潤(矢印)を認める。B: オルセイン染色。門脈域周囲の肝細胞にオルセイン陽性顆粒を高度に認める。C: 左上の肝細胞に比し、小細胞性ディスプラジア様の肝細胞の小型化(\*)を認める。D: はめ絵状の肝硬変像。



性変化と胆管上皮細胞の胞体の腫大や好酸性変性像、胆管細胞に押しつぶされているような細長い形態をとるアポトーシス細胞、胆管の破綻が混在した多彩な像からなる。このようなCNSDCの周囲には、リンパ球や形質細胞の著明な浸潤がみられ、また病初期では好酸球の浸潤が目立つ症例もある。しばしば慢性胆管炎の周囲に類上皮細胞の出現と肉芽腫形成もみられ、特に障害胆管が埋もれている肉芽腫性胆管炎(granulomatous cholangitis)の像はPBCの診断的価値が高い(図3A)。このようなCNSDCを含めた胆管傷害の像は、細胆管から隔壁胆管レベルにまで広くみられるが、PBCの最大の特徴である胆管消失は主として外径が80μm以下の小葉間胆管レベルにみられる<sup>6)</sup>。胆管消失は胆管病変の最終的および不可逆的变化であり、病期進展に伴い肝内に広汎性に出現し、黄疸が出現する例や剖検例では小葉間胆管はほとんど消失している。なお、AIHやC型慢性肝炎では肝炎性胆管傷害を認めるが、C型慢性肝炎では肉芽腫形成を伴う症例もみられる<sup>7)</sup>。これらの胆管傷害像はPBCにみられる胆管傷害像と類似しており、C型慢性肝炎やAIHの組織学的鑑別診断に際し注意を要する所見である。

肝実質の変化は、胆管消失に関連した胆汁うっ滞性変化と慢性肝炎様の変化からなる。胆汁うっ滞性の変化は、門脈域周囲に出現し、肝細胞内の

銅顆粒の沈着、細胆管反応(非定型的細胆管増生)、マロリー・デンク体(Mallory-Denk body: MDB)形成などがある。特に、銅顆粒の沈着は慢性胆汁うっ滞に対する最も敏感な変化であり、オルセイン染色にて陽性顆粒として検出される(図3B)。細胆管反応は、胆道系疾患にしばしば出現する非定型的細胆管の増生であり、好中球浸潤を伴いつつ門脈域辺縁域に出現し、肝細胞の化生に由来する細胆管と考えられている<sup>8)</sup>。また、小細胞性ディスプラジアに類似した肝細胞の小型化もPBCでしばしばみられる特徴的所見であり、胆汁うっ滞を反映している(図3C)。慢性肝炎様の変化としては門脈域辺縁のインターフェイス肝炎(interface hepatitis (biliary piecemeal necrosis))および小葉肝実質内での肝細胞の単細胞性~巣状壊死、好酸体、肉芽腫性肝細胞壊死(類上皮細胞の出現を伴う巣状壊死)などがみられる。

PBCの診断に際し、臨床情報に加えて、肝生検にてCNSDCを示す慢性胆管炎を認める症例ではPBCの診断は容易である。しかし、PBCに矛盾しない(compatible)組織では病理医の裁量に任せられる。CNSDCが確認できなくとも、胆管消失、オルセイン陽性顆粒、小細胞性ディスプラジアに類似した肝細胞の小型化はPBCやPSCなどの胆管消失に伴う慢性胆汁うっ滞性疾患が示唆される。しかし、慢性胆汁うっ滞の所見がなく、

慢性活動性肝炎様の肝炎性変化のみの症例や非特異的反応性肝炎 (non-specific reactive hepatitis : NSRH) と診断されるごく軽度の肝炎性変化のみの症例もある。近年、肝の始原細胞 (progenitor cell) と考えられている Hering 管の減少・消失が PBC で報告されている<sup>9)</sup>。これは極めて病初期または病気発症前からみられる所見とされており、非特異的な所見しか認めない NSRH 症例や著変を認めない症例でもサイトケラチン (cytokeratin : CK) 19 免疫染色にて門脈域周囲の CK19 陽性 Hering 管の消失・減少を認める症例は PBC の可能性がある。

PBC の終末像は他の肝胆道系疾患と同様に肝硬変である。しかし、ウイルス性や AIH の肝硬変とは異なり、PBC などの胆汁性肝硬変では再生結節の再生生活性が低く、はめ絵状 (garland shape) の肝硬変を呈する (図 3D)。さらに線維化が進展すると、肉眼的に大結節性、小結節性、混合型を呈するようになるが、大結節性は、高齢で PBC の罹患期間が長い胆管消失は弱い傾向にあり、大結節性と小結節性では病態の違いを反映していると考えられている<sup>10)</sup>。

**Memo オルセイン染色**

オルセイン染色は、HBs 抗原および銅の沈着に有用な染色法であり、銅顆粒と結合しているメタロチオネンがオルセイン陽性顆粒として検出される。良好な染色を得るためには試薬および染色法に工夫が必要である。当教室の染色法を下記に示す。

- ① 脱パラフィン
- ② 流水水洗 5 分
- ③ 0.25% 過マンガン酸カリウム + 0.2% 硫酸混合液 (酸化液) 1 分
- ④ 流水水洗 5 分
- ⑤ 2% シュウ酸 (還元液) 1 分
- ⑥ 流水水洗 5 分
- ⑦ 蒸留水 1 分
- ⑧ オルセイン液 [オルセイン (メルクまたは東京化成社製) 0.5g + 70% エタノール 100mL + 濃塩酸 0.8mL] 2~3 時間
- ⑨ 70% エタノール 1 分
- ⑩ 脱水、透徹、封入

**2 組織学的病期分類**

長年、PBC の組織学的分類として Scheuer 分類と Ludwig 分類が広く慣れ親しまれてきたが、時代のニーズにあった組織学的病期分類、さらに活動度分類による病勢の把握も必要とされ、PBC の新しい病理学的病期、活動度分類<sup>11)</sup>が、2012 年の PBC の診療ガイドライン<sup>12)</sup>でも推奨されている。病理学的新病期分類は、線維化、胆管消失、さらにオルセイン染色標本がある場合にはオルセイン陽性顆粒沈着の程度を各々スコア 0~3 に評価し、2 組織所見または 3 組織所見のスコアの合計点をもとに stage 1 (no progression), stage 2 (mild progression), stage 3 (moderate progression), stage 4 (advanced progression) の 4 段階に病期分類する (表 1)。これらの方法により、単一の組織所見に基づく Scheuer 分類の不具合を回避することができ、より客観性および正確な進行度の評価が可能となる。一方、活動度分類は、既にウイルス性慢性肝炎や非アルコール性脂肪肝炎で採用されているが、PBC では慢性胆管炎の活動度 (chronic cholangitis activity : CA) および肝炎の活動度 (hepatitis activity : HA) を個別に 0 (no activity), 1 (mild activity), 2 (moderate activity), 3 (marked activity) の 4 段階にスコア化し評価する (表 2)。CA に関しては、明瞭な慢性胆管炎と CNSDC の所見の有無と程度をもとに評価し、HA に関してはインターフェイス肝炎と小葉炎の有無と程度をもとに評価する。「CA」「HA」の個別の活動度評価は PBC の病態の把握、治療効果や予後の判定に有用な指標である。

**III 原発性硬化性胆管炎 (PSC)**

PSC は PBC と異なり、小児にもみられ、明瞭な男女差はなく、また炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease : IBD) を合併するのが特徴である。PSC は、肝内外の大型胆管系を中心に胆管内腔の狭小化と閉塞が多発性に出現し、最終的に胆汁性肝硬変にいたる。このような肝内・肝外胆

表 1 PBC の新組織学的病期分類

線維化のスコア		
score 0	門脈域での線維化がないか、あるいは線維化が門脈域に限局	
score 1	門脈域周囲の線維化あるいは不完全な線維性隔壁を伴う門脈域線維化	
score 2	種々の小葉構造の乱れを伴う架橋性線維化	
score 3	再生結節と高度の線維化を伴う肝硬変	
胆管消失のスコア		
score 0	胆管消失がない	
score 1	1/3 以下の門脈域で胆管消失をみる	
score 2	1/3~2/3 の門脈域で胆管消失をみる	
score 3	2/3 以上の門脈域で胆管消失をみる	
オルセイン陽性顆粒沈着のスコア		
score 0	陽性顆粒の沈着なし	
score 1	1/3 以下の門脈域周囲の肝細胞 (少数) に陽性顆粒の沈着をみる	
score 2	1/3~2/3 の門脈域周囲の肝細胞 (種々の程度) に陽性顆粒の沈着をみる	
score 3	2/3 以上の門脈域周囲の肝細胞 (多数) に陽性顆粒の沈着をみる	
上記組織病変スコアの合計による病期診断		
stage	3 因子スコアの合計 (線維化+胆管消失+オルセイン陽性顆粒沈着)	2 因子スコアの合計 (線維化+胆管消失)
stage 1 (no progression)	0	0
stage 2 (mild progression)	1~3	1~2
stage 3 (moderate progression)	4~6	3~4
stage 4 (advanced progression)	7~9	5~6

表 2 PBC の活動度分類

慢性胆管炎の活動度 (chronic cholangitis activity : CA)	
CA0 (no activity)	胆管炎がない、あるいは軽度の胆管上皮傷害をみる
CA1 (mild activity)	明瞭な慢性胆管炎を 1 か所にみる
CA2 (moderate activity)	明瞭な慢性胆管炎を 2 か所にみる
CA3 (marked activity)	CNSDC を少なくとも 1 か所にみる
肝炎の活動度 (hepatitis activity : HA)	
HA0 (no activity)	インターフェイス肝炎がない、小葉炎はないか、軽微
HA1 (mild activity)	1 か所の門脈域または線維性隔壁周囲の肝細胞 10 個程度にインターフェイス肝炎をみる。軽度~中等度の小葉炎をみる
HA2 (moderate activity)	2 か所以上の門脈域または線維性隔壁周囲の肝細胞 10 個程度にインターフェイス肝炎をみる。軽度~中等度の小葉炎をみる
HA3 (marked activity)	半数以上の門脈域周囲の肝細胞 20 個程度にインターフェイス肝炎をみる。中等度の小葉炎、あるいは架橋性や帯状壊死をみる

CNSDC : chronic non-suppurative destructive cholangitis

管系の線維化と狭小化・閉塞は、胆管系外科手術や胆道結石症などに伴う胆管炎でもみられ、これらの疾患群を総称して硬化性胆管炎 (sclerosing cholangitis) と呼び、特に原因不明の症例や IBD に合併する症例を PSC と呼んでいる。近年、画像診断学の進歩に伴い、PSC の特徴を兼ね備え

た典型例の診断は比較的容易となってきたが、PSC の診断には依然として除外診断が重要であり、臨床情報、胆道造影、病理組織学的所見を併せた総合的な診断が要求される。特に、PSC にみられる組織学的所見の多くは非特異的な病変であり、肝針生検では大型胆管の傷害に続発した小型胆管



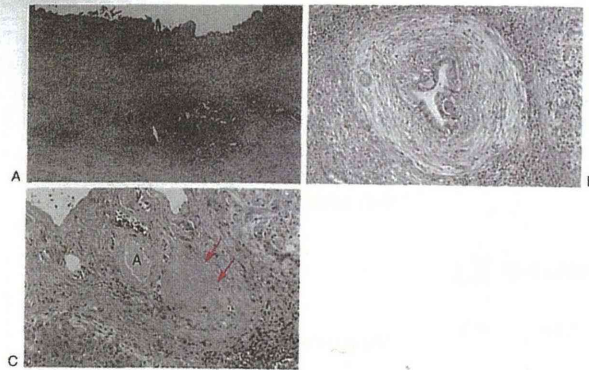


図4 原発性硬化性胆管炎(PSC)  
A: 壁全層性に高度の線維化と粘膜および付属腺周囲に炎症細胞浸潤を認める。B: 胆管周囲のタマネギ状線維化。C: 動脈(A)と伴走する胆管はなく、線維化(矢印)に置き換わっている。

の変化が、あるいはPSC本来の病変が小型胆管に波及した変化かを、症例毎に詳細に検討する必要がある。また、PSCにはいくつかの亜型や特殊型が報告されてきたが、近年疾患概念が確立されつつあるIgG4関連硬化性胆管炎(IgG4-related sclerosing cholangitis: IgG4-SC)との異同について再検討する必要がある。

### 1 病理組織

PSCの病態は、肝内～肝外の大動胆管を中心とした胆管壁の肥厚と硬化、内腔の狭小化・閉塞が基本であり、fibroblastic cholangitisとも呼ばれる。肝内大動胆管および肝外胆管では、胆管壁と周囲結合織に緻密な線維増生と浮腫状変化を伴いつつリンパ球、好酸球、好中球、肥満細胞の炎症細胞浸潤および胆管粘膜のびらん～潰瘍形成がみられ、このため胆管あるいは門脈域が硬化する(図4A)。また、胆管の線維化が進行すると胆管内腔の狭小化、閉塞をきたし、また非狭窄部では円筒状～嚢胞状に拡張する部位もみられる。このような大動胆管レベル病変の分布は不連続に起こり、胆道造影の特徴的所見である念珠状パターン(beaded appearance)に反映される。病期進行例では、胆管拡張部にしばしば胆泥やビリルビンカルシウム石がみられる。胆管のびらん～潰瘍形成部では、周囲に胆汁の漏れと胆汁色素を食

食した組織球を伴う肉芽組織の形成もみられる。まれに類上皮細胞肉芽腫の形成もみられるが、PBCでみられる肉芽腫性胆管炎の像を呈することはない。また、大動胆管の胆管周囲付属腺にも増殖性変化、リンパ球や形質細胞の浸潤、線維化と破壊像を認めることから、胆管周囲付属腺もPSCの標的器官であると考えられている(図3A)。付属腺やその導管の嚢胞状拡張が起こった場合、胆道造影で憩室様の突出として描出される。また、PSCは胆管癌の先行病変のひとつであり、胆管癌の前癌病変である胆管上皮層内腫瘍(biliary intraepithelial neoplasia: BilIN)病変もしばしば観察される。

肝内小型胆管(隔壁胆管～小葉間胆管)レベルにみられる所見は、胆管周囲の同心円状のタマネギ状線維化である(図4B)。また、門脈域内にリンパ球や形質細胞の浸潤が目立ち、さらに胆管上皮の傷害も加わり、PBCのCNSDCに類似する像もみられる。胆管上皮の傷害が進行すると胆管消失をきたし、線維化と呼ばれる瘢痕様輪状線維化巣(図4C)となる。PBCでは瘢痕を残さない胆管消失であるが、PSCは瘢痕を伴う胆管消失(閉塞)であり、線維化はPSCの組織学的診断価値の高い所見である。なお、亜型である肝内小型胆管型PSCはIBDを有し、胆管造影で反映されるレベルの大動胆管になら変化がなく、組織学

的に小葉間胆管や細胆管が主に傷害されている病型である。傷害胆管レベルの門脈域にリンパ球や形質細胞の浸潤が目立つため、以前はpericholangitisとも呼ばれていたが、small-duct PSCの名称に統一されつつある。

肝実質の変化は、PBCと同様、胆管消失に関連した胆汁うっ滞性変化と慢性肝炎様の変化からなる。すなわち、肝細胞内のオルセイン染色陽性銅顆粒の沈着、細胆管反応(非定型的細胆管増生)、MDB形成、小細胞性ディスプラジアに類似した肝細胞の小型化がみられる。慢性肝炎様の変化としては門脈域辺縁のインターフェイス肝炎(biliary piecemeal necrosis)および小葉肝実質内の肝細胞の単細胞性～巣状壊死、好酸体などがみられる。

現時点では、肝移植以外に有効な治療法はなく、多くのPSC症例では病期進展に伴い最終的に肝硬変へと移行する。PSCの終末像はPBCと同様に胆汁性肝硬変で、はめ絵状(garland shape)の肝硬変を呈する。

### 2 組織学的病期分類

PSCの病期分類は、PBCのScheuer分類およびLudwig分類に類似した組織学的分類が用いられている。すなわち、炎症が胆管あるいは門脈域に局限している段階から、炎症や胆汁うっ滞性的変化が肝実質に出現し、肝硬変にいたる過程を4つの病期(I～IV期)に分類している。I期:組織学的変化が門脈域内に局限している段階である。胆管病変、炎症細胞浸潤、門脈域の線維化および浮腫性の拡大がみられるが、門脈域境界線の破壊が目立たず、架橋形成も認めない。II期: I期の所見に加え、胆汁うっ滞性所見と慢性肝炎様所見が目立つ段階で、狭い不完全な隔壁形成もみられる。III期: 門脈域-門脈域あるいは門脈域-中心静脈を結ぶ線維性隔壁形成を伴う段階で、進展するとはめ絵状の前硬変肝となる。IV期: 完成した肝硬変の段階で、はめ絵状の再生結節から、さらに進展すると混合型肝硬変もみられる。

(原田憲一・中沼安二)

### 文献

- Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, et al: Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 48: 169-176, 2008
- Dienes HP: Viral and autoimmune hepatitis. Morphologic and pathogenetic aspects of cell damage in hepatitis with potential chronicity. *Veroff Pathol* 132: 1-107, 1989
- Onji M: Proposal of autoimmune hepatitis presenting with acute hepatitis, severe hepatitis and acute liver failure. *Hepatol Res* 41: 497, 2011
- Misraji J, Thiim M, Graeme-Cook FM: Autoimmune hepatitis with centrilobular necrosis. *Am J Surg Pathol* 28: 471-478, 2004
- Isse K, Harada K, Sato Y, et al: Characterization of biliary intra-epithelial lymphocytes at different anatomical levels of intrahepatic bile ducts under normal and pathological conditions: numbers of CD4+ CD28+ intra-epithelial lymphocytes are increased in primary biliary cirrhosis. *Pathol Int* 56: 17-24, 2006
- Nakanuma Y, Ohta G: Histometric and serial section observations of the intrahepatic bile ducts in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 76: 1326-1332, 1979
- Harada K, Minato H, Hiramatsu K, et al: Epithelioid cell granulomas in chronic hepatitis C: immunohistochemical character and histological marker of favourable response to interferon-alpha therapy. *Histopathology* 33: 216-221, 1998
- Harada K, Kono N, Tsuneyama K, et al: Cell-kinetic study of proliferating bile ductules in various hepatobiliary diseases. *Liver* 18: 277-284, 1998
- Khan FM, Komarla AR, Mendoza PG, et al: Keratin 19 demonstration of canal of Hering loss in primary biliary cirrhosis: "minimal change PBC"? *Hepatology* 57: 700-707, 2013
- Aishima S, Kuroda Y, Nishihara Y, et al: Characteristic differences according to the cirrhotic pattern of advanced primary biliary cirrhosis: Macronodular cirrhosis indicates slow progression. *Hepatol Res* 36: 188-194, 2006
- Nakanuma Y, Zen Y, Harada K, et al: Application of a new histological staging and grading system for primary biliary cirrhosis to liver biopsy specimens: Interobserver agreement. *Pathol Int* 60: 167-174, 2010
- 石橋大海, 中沼安二, 上野義之 他: 原発性胆汁性肝硬変(PBC)の診療ガイドライン(2012年). *肝臓* 53: 633-686, 2012

## Chapter 4

# Histological Findings of Autoimmune Hepatitis

Kenichi Harada

**Abstract** Histology of autoimmune hepatitis (AIH), chronic active hepatitis, is characterized by portal inflammation with interface hepatitis. Although the basic histology of AIH is similar to that of virus-related chronic hepatitis, hepatic changes are usually prominent in AIH compared with chronic viral hepatitis. Clinicopathological diagnosis of AIH requires exclusion of other causes of liver disease, including hepatitis virus, alcohol, drugs, metabolic disorders, and other autoimmune diseases. At present, some criteria systems considering clinicopathological findings are proposed to categorize patients as having either “definite” or “probably/atypical” AIH. Among the pathological items of a simplified AIH scoring system of the International AIH Group, in addition to evident chronic hepatitis with interface hepatitis and hepatic rosette formation, emperipolesis, indicating the close immunological interaction of lymphocytes and hepatocytes, is noted but is sometimes difficult to evaluate. In addition to classical AIH, showing chronic active hepatitis, some AIH patients show a clinically acute hepatitis-like clinical course. These patients have mostly acute exacerbation from chronic active AIH, but acute-onset AIH cases, which histologically exhibit diffuse lobular hepatitis and/or confluent necrosis including perivenular zonal necrosis (zone 3 necrosis, centrizonal necrosis), are also encountered.

**Keywords** Autoimmune hepatitis • Centrizonal necrosis • Chronic active hepatitis • Emperipolesis • Rosette formation

---

K. Harada, M.D. (✉)

Department of Human Pathology, Kanazawa University Graduate  
School of Medicine, Kanazawa 920-8640, Japan  
e-mail: kenichih@med.kanazawa-u.ac.jp

H. Ohira (ed.), *Autoimmune Liver Diseases: Perspectives from Japan*,  
DOI 10.1007/978-4-431-54789-1\_4, © Springer Japan 2014

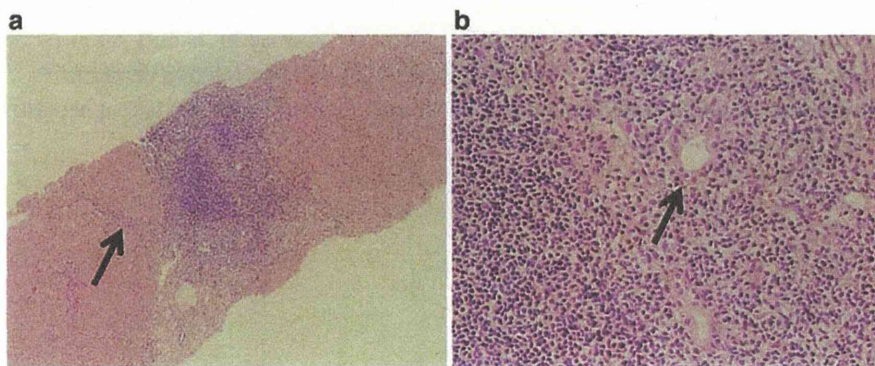
45

## 4.1 Introduction

Chronic hepatitis is defined as an inflammatory disease of the liver that lasts for more than 6 months. Histologically, chronic active hepatitis accompanies interface hepatitis (formerly termed piecemeal necrosis). As an etiology, viral hepatitis (hepatitis B virus, hepatitis C virus, etc.), metabolic disease (nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), Wilson's disease, etc.), toxic agents and drugs (alcoholic liver disease, amiodarone, etc.), and autoimmune disease (autoimmune hepatitis (AIH), primary biliary cirrhosis (PBC), primary sclerosing cholangitis (PSC), and sarcoidosis) have been described. In particular, AIH preferably affects middle-aged women and is characterized by chronic active hepatitis related to autoimmune-mediated and continuous hepatocellular damage. Usually, it can be readily distinguished from the other two major autoimmune biliary diseases, PBC and PSC, but overlap syndromes exist. However, AIH lacks pathognomonic features and histological manifestations are observed in acute and chronic liver diseases of diverse causes.

## 4.2 Basic Histology of AIH

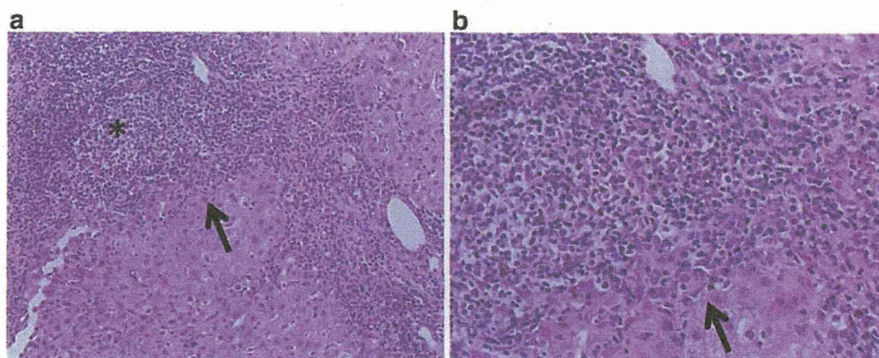
Basic histology of AIH includes chronic active hepatitis characterized by portal inflammation with interface hepatitis, lymphoplasmacytic infiltration and follicle-like aggregation of lymphocytes in portal tracts (Figs. 4.1 and 4.2), fibrous enlargement of portal tracts with fibrous septa formation, hepatocellular damage and necrosis/apoptosis around portal tracts with the destruction of limiting plates (interface hepatitis) (Fig. 4.2), parenchymal necroinflammatory changes including focal necrosis (lobular hepatitis) (Fig. 4.3), and sinusoidal lymphocytic infiltration.



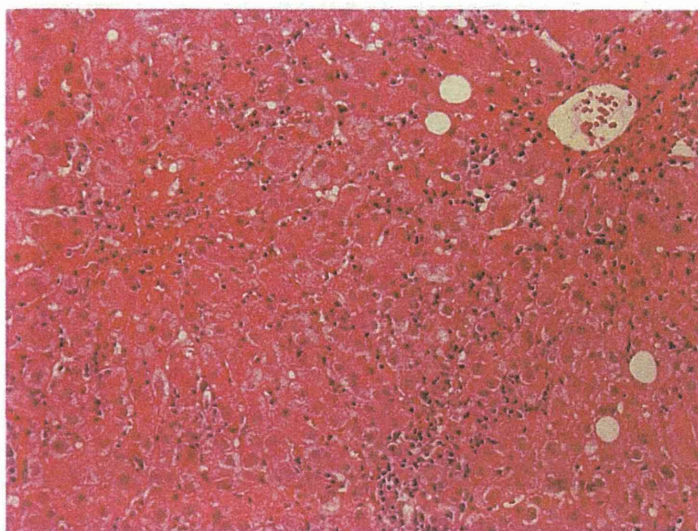
**Fig. 4.1** Typical autoimmune hepatitis (AIH) showing chronic active hepatitis. Enlargement of portal tracts and bridging formation (a, arrow) are observed. In inflamed portal tracts, bile duct damage is observed (b, arrow)

## 4 Histological Findings of AIH

47



**Fig. 4.2** Typical autoimmune hepatitis (AIH) showing chronic active hepatitis. In enlarged portal tracts, severe inflammatory cell infiltration and follicle-like aggregation (\*) are observed (a). Interface hepatitis is also prominent (arrows in a and b). Inflammatory cells consist of lymphocytes and plasma cells (b). b is a higher magnification of a



**Fig. 4.3** Parenchymal change in autoimmune hepatitis (AIH) showing chronic active hepatitis. In parenchyma, many focal necroses are observed. This lobular hepatitis is prominent in AIH

In particular, interface hepatitis is a pathogenic hallmark of chronic active AIH and is prominent during disease flares. These histologies are similar to those observed in chronic active hepatitis caused by viral infection and are not specific for AIH. Interface hepatitis may occur even in biliary diseases such as PBC. However, compared with those observed in chronic viral hepatitis, the hepatic changes that are prominent in typical AIH include the following: infiltration and